

# Transferència d'embrions

## en èquids



Laura Sabater Musach  
5è de Veterinària, UAB  
Deontologia i Veterinària legal  
Curs 2009-2010

## **Índex**

---

### **1. Introducció**

### **2. Tècnica**

#### **2.1. Maneig de les donants**

- 2.1.1. Selecció de les donants
- 2.1.2. Examinació de les donants
- 2.1.3. Maneig de les donants

#### **2.2. Recuperació d'embrions**

- 2.2.1. Tècnica
- 2.2.2. Factors que influeixen en la recuperació d'embrions

#### **2.3. Desenvolupament i morfologia de l'embrió**

#### **2.4. Avaluació de la qualitat de l'embrió**

#### **2.5. Selecció i maneig de les receptores**

- 2.5.1. Selecció de les receptores
- 2.5.2. Examinació de les receptores
- 2.5.3. Maneig de les receptores

#### **2.6. Transferència d'embrions**

- 2.6.1. Transferència quirúrgica
- 2.6.2. Transferència no quirúrgica

#### **2.7. Factors que afecten les taxes de gestació**

### **3. Legislació**

#### **3.1. Legislació europea**

#### **3.2. Legislació espanyola**

### **4. Entrevista**

### **5. Conclusions**

### **6. Bibliografia**

## **1. Introducció**

---

La primera transferència d'embrions realitzada en l'espècie equina es va fer l'any 1972 a la Gran Bretanya i no va ser fins a principis dels 90 que es va realitzar la primera transferència a Espanya.

La transferència d'embrions va comportar una sèrie d'avantatges en la reproducció equina, per la qual cosa continua sent una tècnica bona, funcional i actual. Els principals avantatges són:

- Capacitat per obtenir gestacions d'eugues velles valuoses.
- Incrementar la producció d'eugues amb una genètica superior, permetent així una major influència genètica de la mare.
- Permetre que l'euga pugui seguir competint o concursant mentre espera un poltre.

A part dels avantatges que suposa de cara a la producció de poltres d'una determinada genètica, la recuperació d'embrions també s'ha utilitzat per avaluar la fertilitat de sementals, diversos diluents seminals i semen congelat. Una altra de les utilitats de la transferència d'embrions és l'obtenció d'animals genèticament similars per als estudis d'investigació.

La transferència d'embrions en cavalls, a diferència de l'espècie bovina, no ha comportat un gran progrés genètic ja que no hi ha un mètode eficaç per fer superovular a les eugues. Amb les tècniques actuals es poden esperar un màxim de sis a vuit gestacions d'una euga durant una temporada de cria. Un altre problema és que l'ús de semen refrigerat o congelat disminueix la fertilitat, i per tant en redueix els resultats de la transferència d'embrions. Una altra limitació és que alguns registres de races han restringit el registre a un poltre per any o han condicionat que les eugues receptores siguin de la mateixa raça que l'euga donant.

## **2. Tècnica**

---

### **2.1. Donants**

#### **2.1.1. Selecció de les donants**

En la selecció d'una euga com a donant en un programa de transferència d'embrions, és molt important tenir en compte:

- El cost del procediment
- La història reproductiva de l'euga
- Les restriccions del registre de raça
- El valor potencial dels poltres

Alguns registres de raça han establert una edat mínima de les eugues que es volen utilitzar per formar part en un programa de transferència d'embrions. No obstant, en els darrers anys la regulació s'ha ampliat per permetre l'ús d'eugues de 2 anys d'edat que sovint són massa immadures per gestar un poltre.

Només les eugues amb capacitat de cria demostrada o les eugues amb una genètica superior haurien de ser considerades com a donants, ja que l'historial reproductiu aportarà molta informació de cara a l'efectivitat de la recuperació d'embrions. Les eugues donants haurien de ciclar de forma normal i haurien de tenir una bona condició física abans d'intentar la recuperació d'embrions.

#### **2.1.2. Examinació de les donants**

El primer que s'ha de fer en les donants potencials és realitzar una examinació reproductiva exhaustiva. Això inclou realitzar una palpació i una ecografia de l'aparell genital per via rectal. S'ha de parar especial atenció a la mida i to de l'úter, i també a la mida, forma i to del coll de l'úter. Aquest també s'ha d'examinar per via vaginal per observar la

presència de cicatrius, etc. També és necessària l'obtenció d'un frotis de l'úter per fer una citologia i mostres per fer cultiu i biòpsia. En cas de presència d'endometritis, primer es tractaria la patologia adequadament.

### **2.1.3. Maneig de les donants**

Les eugues donants es recelen cada dia amb un o més sementals. També s'examina diàriament el tracte genital de les eugues en zel fins que es detecta l'ovulació i llavors s'interromp la palpació excepte si hi ha un fol·licle secundari de 35 mm o més. La inseminació de les eugues donants comença el dia 2 o 3 de l'estre i es repeteix diàriament fins al final de l'estre. El dia de l'ovulació es considera el dia 0, i la recuperació d'embrions es realitza de 6 a 8 dies després. Després d'un intent de recuperació d'embrions s'administren prostaglandines a les eugues donants per assegurar que tornin en estre tan aviat com sigui possible i es puguin tornar a inseminar al següent cicle.

## **2.2. Recuperació d'embrions**

### **2.2.1. Tècnica**

El mètode més típic que s'utilitza per a la recuperació d'embrions és un procediment transvaginal no quirúrgic. S'utilitza un catèter Foley del número 30 de 2 sortides, un tub d'entrada, un tub de sortida, un recol·lector i un filtre. Tot el material ha de ser estèril.

L'euga donant està situada en un poltre de contenció amb la cua embolicada i lligada en posició vertical. La zona genital i perineal es neteja acuradament. Seguidament, s'introdueix el catèter per la vagina, es travessa el coll de l'úter fins a 5 cm



aproximadament del cos uterí. Un cop situat el catèter, s'infla el maneguet. Després es tira el catèter enrere, de manera que el maneguet topa amb el cervix i d'aquesta forma es garanteix un tancament hermètic. En el catèter se li fixa el tub d'entrada, per on s'introduirà el medi de recuperació d'embrions. El medi que s'utilitza per recuperar els embrions són 3 litres de DPBS escalfat a 32-35°C amb un 1% de sèrum fetal boví. S'introdueix un litre de la solució de DPBS per gravetat i es tanca el catèter. Es desconnecta el tub d'entrada i es fixa el tub de sortida, el qual té connectat a l'extrem un recol·lector de líquid que conté incorporat un filtre. S'obre el catèter i el fluid drena cap a fora de l'úter per gravetat, passant a través del filtre del recol·lector. Cal tenir cura de mantenir com a mínim 20 ml de líquid al recol·lector en tot moment.



Aquest procés es repeteix dues vegades més, de manera que s'introdueixen 3 litres de DPBS per cada procés de recuperació d'embrions. La recuperació del líquid en el segon i tercer rentat s'acompanya d'un massatge vaginal per via rectal.

La major part del líquid injectat a l'úter de l'euga s'ha de recuperar i ha de ser clar i lliure de restes cel·lulars o de sang. Després de recuperar el tercer litre de medi, es desinfla el maneguet per poder retirar el catèter de l'úter. El líquid que queda a dins del catèter i dins del tub de sortida ha de passar pel recol·lector, i el contingut d'aquest s'aboca en una placa de petri "Quebec".

Finalment, el medi que conté la placa de petri "Quebec" s'observa al microscopi. Normalment, els embrions grans (de 8 i 9 dies) es veuen a ull nu, però els embrions petits (<7 dies) s'han de veure a través del microscopi. Quan s'ha



localitzat l'embrió, s'agafa amb una pipeta ajuntada a una xeringa de vidre d'1 o 3 ml i es trasllada al medi de cultiu (9 ml de DPBS i 1 ml de sèrum fetal boví inactivat). L'embrió es manté a la placa de cultiu a temperatura ambient mentre no és transferit, que s'hauria de fer el més ràpidament possible (<2 hores).



### **2.2.2. Factors que influeixen en la recuperació d'embrions**

- Edat de l'embrió

Les taxes de recuperació d'embrions del dia 7, 8 i 9 postovulació mostren un resultats similars, però si es realitza el dia 6 postovulació els resultats són lleugerament inferiors. Aquests resultats inferiors es poden atribuir a la dificultat per identificar l'embrió en el medi de recuperació, a la pèrdua de l'embrió durant el procediment de



recuperació degut a les seves reduïdes dimensions, a la incapacitat per obtenir els embrions a causa del seu pes específic, o a la no entrada de tots els embrions a l'úter el dia 6. Per tant, la recuperació d'embrions s'ha de dur a terme durant els 7-9 dies postovulació. No obstant això, s'ha vist que els embrions recollits el dia 9 postovulació són més grans i vells i això fa que siguin menys viables.

- Tècnica

No hi ha diferències en la taxa de recuperació d'embrions realitzada per tècnics diferents. S'ha de tenir en compte la correcta col·locació del catèter, assegurant que és a dins de l'úter, ja que si s'infla el maneguet al coll de l'úter es provoca dilatació del cervix i això comporta la pèrdua de líquid durant la recuperació d'embrions.

- Semental i tractament seminal

Els índexs de recuperació d'embrions varien segons el semental utilitzat, ja que la qualitat del semen és diferent en cada individu i per això hi haurà una fertilitat variable que es correspondrà en un número d'embrions diferent.

- Tipus d'euga

Les taxes de recuperació d'embrions són inferiors en les eugues amb un historial reproductiu d'infertilitat, que les eugues amb un historial reproductiu normal. El resultat es pot atribuir a l'absència de fertilitat i/o a l'alteració dels mecanismes de transport dels gàmetes. A més, el nombre d'embrions recuperats també depèn de la raça de l'euga.

- Intents repetits de recuperació d'embrions

Per tal d'obtenir diversos embrions d'una euga durant la temporada de reproducció, l'interval entre la recuperació d'embrions i el retorn a l'estre es disminueix amb l'ús de prostaglandines al mateix dia del procediment. L'administració de prostaglandines també impedeix la gestació en cas de no haver recuperat algun embrió. S'ha demostrat que els resultats de la recuperació d'embrions és independent del nombre d'intents i que l'ús de tractaments hormonals no afecta a la fertilitat.

- Influència estacional



No hi ha diferències en les taxes de recuperació d'embrions realitzades al febrer i a l'octubre.

### **2.3. Desenvolupament i morfologia de l'embrió**

En un programa de transferència d'embrions l'avaluació morfològica de l'embrió és important per dues raons: les taxes de gestació final disminueixen després de la transferència d'embrions anormals i la diferenciació dels ovòcits no fertilitzats dels embrions anormals pot estalviar temps i ús de receptores innecessari. Els paràmetres que s'utilitzen per a avaluar la qualitat de l'embrió inclouen:

- la forma
- el color
- el nombre i la compactació de les cèl·lules
- la mida de l'espai perivitellí
- el nombre de cèl·lules degenerades
- l'etapa de desenvolupament en comparació amb l'edat de l'embrió

L'euga és la única espècie en què els oòcits no fecundats són retinguts a l'oviducte i només els òvuls fecundats són transportats cap a l'úter a través de l'oviducte. Els òvuls fecundats s'alliberen a l'úter al cap de 5-6 dies postovulació. La primera etapa del desenvolupament embrionari és la formació de la mòrula. La transició de mòrula a blàstula es caracteritza per dos canvis principals: la formació d'una cavitat plena de líquid al centre de l'embrió (el blastocel), i la reordenació de les cèl·lules en dues poblacions. Seguidament es forma el blastocist, on és evident que l'embrió consta de dues poblacions diferents de cèl·lules. És difícil a partir de la mesura de la mida de l'embrió saber l'edat exacta d'aquest, ja que el moment de l'ovulació no es coneix amb exactitud. Els embrions obtinguts als 6 dies postovulació estan en fase de mòrules o a l'inici de blastocists amb una zona pel·lúcida ben definida. A mesura que l'edat de l'embrió avança, en èquids la zona pel·lúcida es torna més prima i s'elimina de l'embrió. La

majoria dels embrions obtinguts el dia 7 postovulació i tots els obtinguts el dia 8 i 9 postovulació són blastocists. S'ha observat també la presència d'una capa prima i uniforme a sobre de la superfície interna de la zona pel·lúcida, anomenada càpsula, que es forma el dia 6. La interpretació de la funció de la càpsula segueix sent especulativa, però és possible que pugui ser una barrera protectora, amb una especial importància pels embrions que es troben en unes condicions subòptimes per al desenvolupament embrionari com podria ser un úter inflammat després d'un part o per la presència d'una endometritis.

## 2.4. *Avaluació de la qualitat de l'embrió*

Per determinar la viabilitat d'un embrió s'observa la seva morfologia i la presència d'anormalitats, i un cop avaluat se li assigna una categoria de l'1 al 5 (Taula 1). La majoria dels embrions obtinguts es consideren normals, de grau 1 o 2.

Grau	Categoria
1	<b>Excel·lent.</b> Embrió ideal, esfèric, amb cèl·lules de mida, color i textura uniforme.
2	<b>Bo.</b> Imperfeccions menors com alguns blastòmers degenerats, forma irregular o separació trofoblàstica.
3	<b>Regular.</b> Definit, però sense problemes greus. Presència de blastòmers degenerats, cèl·lules degenerades o blastocel col·lapsat.
4	<b>Pobre.</b> Greus problemes, blastocel col·lapsat, molts blastòmers degenerats, cèl·lules degenerades però amb una aparença viable de la massa embrionària.
5	<b>Infèrtil o mort.</b> Oòcits infèrtils o embrió totalment degenerat.

**Taula 1.** Sistema de classificació utilitzat per a qualificar els embrions d'èquids.

Els paràmetres morfològics que es tenen en compte a l'hora d'avaluar la qualitat d'un embrió són:

- la compactació dels blastòmers
- els blastòmers danyats
- el color de l'embrió
- la forma de l'embrió

- la mida de l'espai periviteli
- danys a la zona pel·lúcida
- l'etapa de desenvolupament en comparació amb l'edat de l'embrió

Pel que fa a les anomalies més freqüents que determinen la qualitat i viabilitat de l'embrió són:

- la contracció del trofoblast de la zona pel·lúcida
- blastocists foscos de forma irregular
- blastòmers degenerats
- embrions de forma irregular
- embrions amb una fosca massa cel·lular interna

Algunes de les anomalies que presenten els embrions estan relacionades amb la refrigeració durant 12- 24 hores. Aquestes són:

- blastocel col·lapsat (total o parcialment) amb separació cel·lular de la zona pel·lúcida o de la càpsula
- blastòmers degenerats
- cèl·lules fosques
- augment de l'aparença granular de la superfície amb aparent separació cel·lular

La majoria dels oòcits no fertilitzats prenen forma ovalada i s'aplanen en una direcció.

## **2.5. Receptores**

### **2.5.1. Selecció de les receptores**

L'adequada selecció de les eugues receptores i la seva gestió és un dels factors més importants que condicionen l'èxit d'una transferència d'embrions en cavalls. Com a receptores es prefereixen les eugues que tenen un historial reproductiu bo o bé eugues verges. Malauradament

l'historial reproductiu no sempre es coneix. En qualsevol cas, les eugues receptores han de complir uns requisits mínims: han de pesar entre 450 i 550 kg i han de tenir de 3 a 10 anys d'edat.

### **2.5.2. Examinació de les receptores**

Les eugues receptores passen un examen minuciós del tracte reproductiu. Aproximadament un 15-20% de les eugues no són acceptades com a receptores potencials. A les eugues acceptades se'ls hi realitza un cultiu, una biòpsia, una citologia i una ecografia. Però només les eugues que en la biòpsia hagin obtingut un resultat de grau 1 i que no presenti signes d'endometritis són utilitzades com a receptores.

### **2.5.3. Maneig de les receptores**

Les receptores es vacunen contra la influença, l'encefalitis de l'Est i Oest, el tètanus i la rinopneumonitis equina i generalment es posen en quarantena durant un període mínim de 30 dies. Durant aquest període són alimentades per a mantenir el pes i una bona condició corporal.

Les receptores es recelen i es palpen via rectal diàriament mentre estan en estre, i es registra el dia de l'ovulació de cada receptora. Només s'utilitzen aquelles receptores que han tingut un o més cicles normals. Es seleccionen les receptores que han ovulat un dia abans o de 0 a 3 dies després que l'euga donant.

Normalment una donant pot ser aparellada amb una receptora que ha ovulat de forma espontània, sense ús d'hormones per sincronitzar els seus cicles. No obstant, quan no es disposa d'un gran nombre d'eugues receptores, es solen sincronitzar els zels d'ambdues. La sincronització de l'ovulació es pot aconseguir mitjançant una teràpia hormonal. Si disposem de varies eugues receptores, és preferible que hi hagi dues receptores disponibles per a cada euga donant.

El maneig de les eugues receptores després de la transferència d'embrions depèn del tipus de transferència que s'hagi dut a terme. Després de la transferència quirúrgica, se'ls hi administra penicil·lina per via intramuscular durant 5 dies consecutius, s'allotgen en quadres individuals, i se'ls hi realitzen exploracions físiques generals diàries. Si estan gestants al dia 14 després de la cirurgia i no s'observen complicacions postquirúrgiques, es tornen a l'eugassada. En el cas que la transferència d'embrions no s'hagi realitzat quirúrgicament, les eugues es tornen a l'eugassada immediatament després de la transferència. A partir dels 11 o 12 dies de gestació (4 o 5 dies posttransferència) es poden ecografiar. També és valora el to de l'úter i del coll uterí mitjançant palpació rectal. Les eugues és reexaminen el dia 15, 20, 25, 35, 50 i 60 de gestació.

Si la receptora torna en estre després de la transferència d'embrions, es repeteix el procediment una segona vegada. També es repeteix en cas de diagnosticar pseudogestació. En aquest cas, s'administren prostaglandines per induir el zel. Si la segona transferència d'embrions falla, no se'n tornen a fer més en la receptora.

Les receptores gestants han d'estar monitoritzades durant el prepart. En el part, es segueixen els mateixos procediments que s'utilitzen normalment.

Un nou desenvolupament en la transferència d'embrions en cavalls és l'ús de eugues ovariectomitzades tractades amb esteroides com a receptores. En aquestes eugues és necessari aplica'ls-hi un tractament amb progesterona o progestàgens uns dies abans de la transferència fins els dies 100 i 140 de gestació. Les taxes de gestació després de la transferència quirúrgica en eugues ovariectomitzades tractades amb progesterona són similars als de les eugues normals. El part i la lactància d'eugues ovariectomitzades tractades amb hormones es produeixen de forma normal. L'ús d'aquestes eugues com a receptores

podria eliminar la necessitat de sincronitzar l'ovulació entre donant i receptora i reduir el nombre de receptores per donant.

## **2.6. Transferència d'embrions**

Hi ha dos mètodes per realitzar la transferència d'embrions, el mètode quirúrgic mitjançant l'exposició de l'úter a través de la línia mitja o del flanc, i el mètode no quirúrgic que es realitza de forma transvaginal.

### **2.6.1. Transferència quirúrgica**

La transferència quirúrgica es pot realitzar de dues maneres, fent una incisió a la línia mitja de l'abdomen o bé una incisió al flanc.

Els passos a seguir en la transferència quirúrgica amb incisió a la línia mitja són:

1. Incisió a la línia mitja de l'abdomen.
2. Retracció i exposició parcial de la punta de la banya uterina ipsilateral al lloc de l'ovulació.
3. Incisió a la llum de la banya uterina.
4. Inserció de 0.5 ml de medi de cultiu que conté l'embrió a la llum de la banya uterina.
5. Tancament de l'obertura externa de l'úter mitjançant compressió de la serosa uterina amb una pinça hemostàtica.
6. Retorn de l'úter a la seva posició normal.
7. Tancament de la línia ventral mitja.

L'inconvenient d'aquesta tècnica és que és necessària l'anestèsia general, és un procediment car i lent i a més requereix unes instal·lacions adequades i un personal qualificat.

Els passos en la transferència quirúrgica amb incisió al flanc són els següents:

1. Col·locació de les receptora en un poltre de contenció i sedació.
2. Esquilar la fossa paralumbar formant una àrea d'uns 35 cm d'ample i 45 cm de llarg i netejar-la.
3. Anestèsia local de la fossa paralumbar.
4. Incisió en els teixits superficials i profunds situats entre la tuberositat coxal i l'última costella, començant uns 10 cm ventralment als processos lumbar i extenent-se 15-20 cm ventralment.
5. Rentar l'àrea asèpticament.
6. Realitzar una dissecció roma de la musculatura i penetrar al peritoneu.
7. Exposició parcial de la punta de la banya uterina ipsilateral al lloc de l'ovulació.
8. Incisió a la llum de la banya uterina.
9. Inserció de 0.5 ml de medi de cultiu que conté l'embrió a la llum de la banya uterina.
10. Tancament de l'obertura externa de l'úter mitjançant compressió de la serosa uterina amb una pinça hemostàtica.
11. Retorn de l'úter a la seva posició normal.
12. Reconstrucció dels grups musculars amb una sutura contínua.
13. Tancament del teixit subcutani i la pell.

Aquest procés té l'avantatge que només és necessària anestèsia local, es pot realitzar amb l'euga drete i té una recuperació immediata.

### **2.6.2. Transferència no quirúrgica**

La transferència no quirúrgica és una tècnica menys agressiva, ja que es transfereix l'embrió per via transvaginal. El procediment és similar a una inseminació artificial. És la tècnica més utilitzada actualment.

El material necessari és una via d'inseminació dins d'una funda protectora, amb l'embrió situat entre 0.5 ml de medi, 0.2 ml d'aire, 0.5 ml



de medi que conté l'embrió, i 0.2 ml d'aire. Tot el procediment ha de ser estèril i utilitzant material estèril.

L'euga receptora es col·loca en un poltre de contenció i se li neteja i desinfecta la vulva i la zona perianal. El tècnic introdueix una mà via rectal i amb l'altra guiarà la via d'inseminació per via vaginal. Es busca l'obertura del cervix per introduir la via d'inseminació utilitzant el dit índex. S'introdueix la via a l'úter fins que es troba una resistència, llavors es retira uns 2 cm. Es diposita l'embrió i es retira la via d'inseminació.

Les taxes de gestació de la transferència no quirúrgica han variat del 10% al 67%, amb una tendència clara a incrementar-se amb el pas dels anys.

## **2.7. Factors que afecten les taxes de gestació**

- Època de l'any

Afecta molt a les taxes de gestació. Quan la transferència quirúrgica o no quirúrgica es realitza durant els mesos de març a juny, sobreviuen menys embrions que si la transferència es realitza durant els mesos de juny a octubre, donant uns resultats més alts durant el juliol i l'agost.

- Factors de l'embrió

- Edat i mida: els embrions vells i grans són menys viables en les transferències no quirúrgiques.
- Únic o múltiple: la recuperació i transferència de molts embrions incrementa l'eficiència del programa de transferència d'embrions i disminueix el cost per cada transferència satisfactòria.
- Qualitat: la incidència d'anormalitats morfològiques hauria de ser baixa.

- Sincronia entre donant i receptora

El grau de sincronia no és un factor que afecti molt a les taxes de gestació. Les transferències realitzades en eugues que han ovulat d'1

dia abans a 3 dies després que la receptora mostren unes taxes similars (75%), en canvi quan la receptora ovula 2 dies abans, les taxes disminueixen (55%). Les receptores que ovulen >2 dies abans que la donant, no són bones candidates ja que les taxes de gestació són molt baixes. En el cas de les eugues receptores ovariectomitzades tractades amb hormones, les taxes de gestació són elevades (70-75%).

- Mètode de la transferència

La transferència quirúrgica dona unes taxes de gestació més altes que en la transferència no quirúrgica. Aquests resultats més baixos es podrien explicar per diverses raons:

- Inflamació local lleu per contaminació bacteriana.
- Expulsió de l'embrió per estimulació del cervix que indueix contraccions uterines.
- Trauma induït en la transferència.
- Lloc de dipòsit de l'embrió en la transferència.
- Dany de l'embrió durant la transferència.

La transferència quirúrgica a la banya uterina ipsilateral dona uns millors resultats (85%) que si es realitza a la banya uterina contralateral (55%).

- Tècnic

L'habilitat del tècnic en la transferència no quirúrgica té un efecte important en la taxa de gestació.

- Emmagatzematge de l'embrió

El medi on es manté l'embrió, la temperatura de conservació, la durada de l'emmagatzematge i la mida i edat de l'embrió són factors que determinen la viabilitat de l'embrió.

### 3. Legislació

---

Des de l'any 2002 existeix un nou marc normatiu comunitari que regula la gestió dels subproductes animals no destinats al consum humà (sandach). Aquests es defineixen com: cossos sencers o parts d'animals o productes d'origen animal mencionats als articles 4, 5 i 6 del Reglament CE 1774/2002, no destinats al consum humà per motius comercials o sanitaris, inclosos òvuls, embrions i esperma.

#### 3.1. **Legislació europea**

- **Decisió 2007/240/CE** de 16 d'abril de 2007, per la que s'estableixen nous certificats veterinaris per a la introducció en la Comunitat d'animals vius, esperma, embrions, òvuls i productes d'origen animal en el marc de les Decisions 79/542/CEE, 92/260/CEE, 93/195/CEE, 93/196/CEE, 93/197/CEE, 95/328/CE, 96/333/CE, 96/539/CE, 96/540/CE, 2000/572/CE, 2000/585/CE, 2000/666/CE, 2002/613/CE, 2003/56/CE, 2003/779/CE, 2003/804/CE, 2003/858/CE, 2003/863/CE, 2003/881/CE, 2004/407/CE, 2004/438/CE, 2004/595/CE, 2004/639/CE i 2006/168/CE
- **Decisió 2004/186/CE** de 16 de febrer de 2004 per la que es modifiquen determinats annexes de la Decisió 96/510/CE pel que es refereix als requisits zootècnics per a la importació d'esperma, òvuls i embrions de l'espècie equina
- **Reglament (CE) 1774/2002** de 3 d'octubre de 2002, pel que s'estableixen les normes sanitàries aplicables als subproductes animals no destinats al consum humà, el qual estableix les normes de sanitat animal i salut pública aplicables a la recollida, el transport, l'emmagatzematge, la manipulació, la transformació i la utilització o l'eliminació d'aquests materials, així com a la seva comercialització i la dels seus productes derivats.
- **Reglament (CE) 1282/2002** de 15 de juliol de 2002, que modifica determinats annexes de la Directiva 92/65/CEE, per la que s'estableixen

les condicions de policia sanitària aplicables als intercanvis i a les importacions en la Comunitat d'animals, esperma, òvuls i embrions no sotmesos, amb respecte a aquestes condicions, a les normatives comunitàries específiques a que es refereix la secció I de l'annex A de la Directiva 90/425/CEE.

- **Decisió 96/510/CE** de 18 de juliol de 1996, per la que s'estableixen els certificats genealògics i zootècnics d'importació d'animals de reproducció i del seu esperma, òvuls i embrions.
- **Decisió 96/79/CE** del 12 de gener del 1996, per la que s'estableixen els certificats zootècnics relatius a l'esperma, als òvuls i als embrions dels èquids registrats.
- **Decisió 95/294/CE** de 24 de juliol de 1995, per la que s'estableix el model de certificat sanitari per al comerç d'òvuls i embrions de l'espècie equina.
- **Decisió 95/176/CE** del 6 d'abril de 1995 per la que es modifiquen els Annexes C i D de la Directiva 92/65/CEE per la que s'estableixen les condicions de policia sanitària aplicables als intercanvis i a les importacions a la Comunitat d'animals, esperma, òvuls i embrions no sotmesos, respecte a aquestes condicions, a les normatives comunitàries específiques a les que es refereix la secció I de l'annex A de la Directiva 90/425/CEE.
- **Directiva 94/28/CE** de 23 de juny de 1994 per la que s'estableixen els principis relatius a les condicions zootècniques i genealògiques aplicables a la importació d'animals, esperma, òvuls i embrions procedent de tercers països i per la que es modifica la Directiva 77/504/CEE referent a animals de l'espècie bovina de raça selecta per a reproducció.
- **Decisió 94/63/CE** de 31 de gener de 1994, per la que s'estableix la llista provisional dels tercers països a partir dels quals els Estats membres autoritzen les importacions d'esperma, òvuls i embrions de les espècies ovina, caprina i equina, i d'òvuls i embrions de la espècie porcina.
- **Directiva 92/65/CEE** del 13 de juliol de 1992, per la que s'estableixen les condicions de policia sanitària aplicables als intercanvis i a les importacions en la Comunitat d'animals, esperma, òvuls i embrions no

sotmesos, respecte a aquestes condicions, a les normatives comunitàries específiques a les que es refereix la secció I de l'Annex A de la Directiva 90/425/CEE.

- **Directiva 90/675/CEE** de 10 de desembre de 1990, per la que s'estableixen els principis relatius a l'organització de controls veterinaris dels productes que s'introdueixin a la Comunitat procedents de països tercers.
- **Directiva 90/427/CEE** de 26 de juny del 1990, relativa a les condicions zootècniques i genealògiques que regulen els intercanvis intracomunitaris d'èquids.
- **Directiva 90/426/CEE** de 26 de juny de 1990, relativa a les condicions de policia sanitària que regulen els moviments d'èquids i les importacions d'èquids procedents de països tercers.
- **Directiva 90/425/CEE** de 26 de juny de 1990, relativa als controls veterinaris i zootècnics aplicables en els intercanvis intracomunitaris de determinats animals vius i productes amb vistes a la realització del mercat interior.

### **3.2. Legislació espanyola**

- **Reial Decret 2129/2008** de 26 de desembre, pel qual s'estableix el Programa nacional de conservació, millora i foment de les races ramaderes.
- **Reial Decret 662/2007** de 25 de maig de 2007, sobre selecció i reproducció de bestiar equí de races pures.
- **Reial Decret 517/2005** de 6 de maig, pel que es modifica el Reial Decret 1133/2002 de 31 de octubre, pel que es regulen en l'àmbit de les races equines, el règim jurídic dels llibres genealògics, les associacions de criadors i les característiques zootècniques de les diferents races.
- **Reial Decret 1429/2003** de 21 de novembre, pel que es regulen les condicions d'aplicació de la normativa comunitària en matèria de subproductes d'origen animal no destinats al consum humà.

- **Llei 8/2003** de 24 de abril, de sanitat animal.
- **Reial Decret 1133/2002** de 31 d'octubre pel que es regulen en l'àmbit de les races equines, el règim jurídic dels llibres genealògics, les associacions de criadors i les característiques zootècniques de les diferents races.
- **Reial Decret 1881/1994** del 10 de setembre pel que s'estableixen les condicions de policia sanitària aplicables als intercanvis intracomunitaris i a les importacions procedents de països tercers d'animals, esperma, òvuls i embrions no sotmesos, respecte a aquestes condicions, a les disposicions contingudes en la secció 1a de l'annex A del RD 1316/1992.
- **Reial Decret 1316/1992** del 30 d'octubre pel que s'estableixen els controls veterinaris i zootècnics aplicables en els intercanvis intracomunitaris de determinats animals vius i productes amb vistes a la realització del mercat interior.

#### **4. Entrevista**

---

Entrevista al Doctor Jordi Miró, professor de Patologia de la Reproducció i Patologia Obstètrica, de la Facultat de Veterinària de la UAB. Va ser el primer veterinari en realitzar transferències d'embrions a Espanya i actualment és el director dels programes de transferència d'embrions que es duen a terme a la Unitat Equina de l'Hospital Clínic Veterinari de la UAB.

**En els programes de transferència d'embrions, un dels problemes que sorgeixen en l'espècie equina a diferència de la bovina és la incapacitat per fer superovular a les eugues donants, ha millorat aquest factor amb els anys?**

No. S'han realitzat alguns treballs amb l'ús de diverses hormones com l'hCG, la LH, la GnRH i també amb l'ús d'extractes hipofisaris, però els resultats no són bons. Tan sols es produeix un increment de l'1%. Aquest problema és degut al bon sistema immunològic que presenten els cavalls, ja que quan s'administren repetidament aquestes substàncies, de seguida es creen anticossos i es tornen resistents.

**Quins problemes poden sorgir en les eugues donants en el procés de recuperació d'embrions?**

Aquest procés no presenta cap risc per a les eugues. S'ha de procurar que el rentat es faci amb el màxim d'asèpsia possible i que en la recuperació del líquid es procuri recuperar-ne el màxim possible. Nosaltres el que fem després de realitzar el rentat uterí és administrar una prostaglandina uterotònica, que afavoreix dues coses, la primera és que l'euga retorni en zel ja que destrueix el cos luti, i la segona és que hi hagi contraccions de l'úter, que afavoriran la retirada del possible medi que hagi quedat a l'úter després del rentat. En el cas que s'hagi de tornar a fer una segona recuperació d'embrions, no ho fem mai en dos zels seguits, deixem que passi un zel i en el proper hi tornem. Si la recuperació d'embrions es fa asèpticament, no hi ha risc d'endometritis contagiosa.



**Feu munta natural o inseminació artificial?**

Fem inseminació artificial, encara que tinguem el semental a prop, li fem una extracció de semen i inseminem a l'euga amb semen fresc. Després d'inseminar l'euga donant, fem un rentat uterí 6 hores postinseminació. Passades 6 hores, els espermatozoides ja es troben a l'oviducte, o sigui que no afectem a la fertilitat, i el que aconseguim és deixar un úter amb un medi adequat per als embrions.

**Quin tipus de semen utilitzeu?**

És un factor que depèn del que t'ofereixi el propietari. A ser possible és millor utilitzar semen fresc, ja que la fertilitat és més alta. El semen fresc, durant la primera mitja hora postextracció no el diluïm, i si no l'utilitzem fins al cap de 2 hores el diluïm. El diluent aporta glucosa, que és el substrat energètic dels espermatozoides, minimitza l'acidificació del medi que produeix el lactat resultant de l'ús de la glucosa, i a més conté antibiòtic. Si no és possible utilitzar semen fresc, utilitzem semen refrigerat, però disminueix la fertilitat a un 50-60% a les 24 hores, i fins a un 40% a les 48 hores. I si no és possible utilitzar semen fresc ni refrigerat, fem servir semen congelat, però hem de tenir en compte que la temperatura danya als espermatozoides i tenim un semen subfèril.

**Pel que fa a les eugues receptores, d'on provenen generalment?**

S'intenta que les portin els mateixos propietaris de l'euga donant, ja que així no hi ha problemes en el manteniment de l'euga. També hi ha alguns veterinaris que lloguen eugues pesades a ramaders perquè facin de receptores.

**L'ús d'eugues ovariectomitzades, és realment útil?**

És un treball costós, ja que s'han d'estar tractant amb hormones contínuament. A més tampoc ha donat uns resultat molt bons.

**En el vostre programa, quin tipus de transferència feu en les receptores?**

Fem transferència transvaginal, que és la que es fa en general. Les altres tècniques no es fan servir degut a l'alt risc de peritonitis que comporten. Sempre s'intenta fer servir tècniques el menys cruentes possible. A més, els

resultats amb la tècnica transvaginal són boníssims i crees menys danys en l'euga receptora. En el cas que l'euga receptora hagi de rebre posteriors transferències d'embrions, el fet de fer-les quirúrgicament danya més a l'animal.

### **Quins problemes poden patir les eugues receptores en el procés de la transferència?**

Com ja he dit, en la tècnica quirúrgica el risc és de patir peritonitis, i per això no es fa servir. I en la tècnica transvaginal no comporta riscos, s'ha de fer asèpticament.

### **És possible conservar embrions?**

Si, en general s'obtenen embrions de 6-8 dies postovulació, i els embrions de dia 6 són els que suporten més bé la congelació, el problema és que també són els que costen més de recuperar perquè són més petits.

### **Hi ha alguna tècnica que en el futur pugui substituir la transferència embrionària?**

La transferència embrionària és una tècnica que s'utilitza per incrementar la productivitat de l'euga, i poder tenir més d'un poltre a l'any. És molt utilitzat en el cas d'eugues amb un elevat potencial genètic. És una tècnica molt bona i que funciona. L'ús d'altres tècniques depèn del problema reproductiu que ens presenti el propietari. En el cas de les eugues ens podem trobar femelles fèrtils amb les que tenim dues opcions, fer reproducció natural o fer transferència d'embrions; en el cas de femelles infèrtils haurem d'investigar a on és el problema i en funció dels resultats podem fer transferència d'embrions o bé OPU, que consisteix en aspirar líquid fol·licular amb ovòcit i inocular un espermatozoide a dins de l'ovòcit (ICSI) creant un embrió per poder transferir-lo. En el cas dels mascles, si són fèrtils es pot fer munta natural o bé obtenir el semen per fer inseminació artificial; si és subfèrtil podem fer sistemes de millora del semen i utilitzar-lo per inseminació artificial o per ICSI, o bé es pot fer ICSI directament. En conjunt, el que importa és el problema reproductiu, i a partir d'aquí escollir la tècnica que més s'adeqüi a la situació.

## 5. **Conclusions**

---

La transferència d'embrions és una tècnica que des de la seva aparició no ha sofert modificacions importants, tot i haver recercat molt en alguns problemes que presentava inicialment. S'ha estandaritzat a realitzar la transferència utilitzant la transferència transvaginal en comptes d'utilitzar tècniques quirúrgiques com la incisió al flanc o la incisió a la línia mitja. El fet d'utilitzar una tècnica relativament senzilla i fàcil de realitzar ha estès el seu ús, ja que no requereix ubicacions especials i que no comporta cap perill per a les eugues donants i receptores. A més les eugues no es veuen perjudicades en repetits processos ni en el pas dels anys. Les taxes de gestació que s'aconsegueixen depenen fonamentalment del tipus de semen que s'utilitza, igual que succeeix en la inseminació artificial. Si l'ús de semen fresc o la munta natural té uns resultats del 70%, és lògic que la transferència d'embrions no garanteixi una gestació al primer intent. Si utilitzem semen refrigerat o congelat els resultats encara disminueixen més, ja que en inseminació artificial són del 40-50%, i en el cas de semen congelat d'un 30%. No obstant això, és una bona tècnica i dóna uns resultats bons.

D'altra banda, l'ús d'aquesta tècnica ha creat una problemàtica en el registre de races, on han restringit el seu ús a un determinat número de pòltres a l'any o l'han condicionat en la raça de les eugues receptores. Crec que la transferència d'embrions no hauria de suposar un impediment a l'hora d'inscriure un cavall en el llibre genealògic, ja que l'animal que neix conté els mateixos gens materns i paterns tan si s'ha gestat en la mare materna com si s'ha gestat en la mare receptora. D'aquesta manera, no veig necessari que l'euga receptora sigui de la mateixa raça que l'euga donant, doncs no influirà en la genètica del pòltre. Tampoc crec acceptable restringir el nombre de pòltres per any que s'obtenen en la transferència d'embrions, ja que el que es fa és potenciar la capacitat reproductiva de la mare igual que es fa quan s'utilitza la inseminació artificial, ja que d'un ejaculat que només hauria servit per una possible gestació se'n obtenen diverses dosis que esdevindran possibles gestacions.

Així doncs, crec que la transferència d'embrions és una tècnica molt útil quan es vol obtenir un poltre de qualitat i l'euga no pot mantenir la gestació, ja sigui perquè competeix, perquè és vella, o perquè té problemes de fertilitat i que s'haurien de replantejar l'existència d'impediments que estableixen els registres de raça.

## 6. **Bibliografia**

---

TAINTURIER D, BRUYAS JF, DUMONT P, FIENI F, ESCOUFLAIRE PH. (1989) *La transplantation embryonnaire chez la jument*. Revue Méd. Vét., 140, 1109-1115.

McKINNON AO. *Equine embryo transfer* (1988) Compendium on continuing education for the practicing veterinarian, vol.10, núm. 3, 343-353.

[http://www.mapa.es/ca/ganaderia/pags/equino/pr\\_legislacion.htm](http://www.mapa.es/ca/ganaderia/pags/equino/pr_legislacion.htm)

<http://www20.gencat.cat/portal/site/DAR>

[http://europa.eu/index\\_es.htm](http://europa.eu/index_es.htm)

<http://www.boe.es/>